

Kukkien värimuuntelu populaatioissa

Lauri Raami
LuK-tutkielma (750376A)
Ekologian ja genetiikan
tutkimusyksikkö

Sisällysluettelo

1.	Johdanto ja työn tarkoitus	2
2.	Kukkien värin biokemiallista perustaa	3
2.1.	Pigmentit	3
2.1.1.	Antosyaanit	3
2.1.2.	Karotenoidit	5
2.1.3.	Beetalainit	6
2.1.4.	Muut tekijät	7
3.	Väriin vaikuttavia geenejä ja niiden toimintaa	7
3.1.	Esimerkkejä antosyaanireitin geenien vaikutuksista	8
3.2.	Esimerkkejä karotenoidireitin geenien vaikutuksista	9
3.3.	Esimerkkejä beetalainireitin geenien vaikutuksista	10
3.4.	Geenien yhteisdominanssi	10
4.	Valinnan vaikutus värimuotoihin	11
4.1.	Bioottiset tekijät	11
4.1.1.	Pölyttäjät	12
4.1.2.	Puolustus	14
4.1.3.	Itsesiitos	15
4.2.	Abioottiset tekijät	15
5.	Geneettisen ajautumisen vaikutus värimuotoihin	17
6.	Yhteenveto ja tulevaisuuden pohdinta	17

1. Johdanto ja työn tarkoitus

Kukkivien kasvien kukat ovat yleensä värikkäitä. Kukkien tarkoitus on houkutella pölyttäjiä, esimerkiksi kimalaisia, perhosia ja jopa lintuja. Useimmiten kukan väri on lajikohtainen, eli tietyllä lajilla on vain tietyn värisiä kukkia. Joillakin kasveilla on kukan väripolymorfiaa lajinsisäisesti, eli tietyistä populaatioista löytyy vähintään kahta eri värimuotoa. Värimuotojen syy löytyy pigmenttien synteesiin liittyvistä geeneistä, joissa on tapahtunut mutaatioita. Nämä mutaatiot periytyvät yleensä mendelistisesti (Narbona ym. 2018). Mendelistisessä periytymisessä diploidin yksilön lokuksessa on kaksi alleelia, joista kummatkin on peritty vanhempaispolvelta. Alleeli voi olla joko villityyppi tai mutantti. Villityyppi ilmentää geenin toimintaa oikealla tavalla ja mutaatio puolestaan poistaa geenin toiminnan tai muokkaa sitä. Kummaltakin vanhemmalta periytyy yksi alleeli. Tällaisessa kahden alleelin systeemissä mahdolliset periytymistyytit ovat toimivan alleelin suhteen homotsygootti (A/A), alleelien suhteen heterotsygootti (A/a), sekä mutaation suhteen homotsygootti (a/a). Alleelien ilmentäminen voi olla yhteisvallitsevaa tai dominoivaa. Yhteisvallitsevassa muodossa heterotsygootti on kukan värin mukaan kummankin homotsygootin genotyypin välistä, kun taas dominoivassa muodossa heterotsygootti on ilmiänsänsä samanvärisen kuin villityyppi.

Kasvilajilla on väripolymorfiaa, mikäli edes yhdessä populaatiossa esiintyy samaan aikaan vähintään kahta eri geneettisesti määräytyvää värimuotoa. Polymorfian määrittäminen on silti hankalaa, koska joillakin kasveilla kukan väri muuttuu ajan myötä. Tämä voi näyttää populaatiossa heterogeeniselta värijoukolta, mutta se ei ole sitä geneettisesti, koska kaikilla on sama perimä kukan värin suhteen. Joillakin kasveilla voi olla maantieteellisesti erilaisia populaatioita kukan värin suhteen, mutta värimuotoja ei kuitenkaan koskaan löydy limittäin. Tässä tilanteessa saattaa olla mahdollista, että kasvi on ollut aikaisemmin polymorfinen, mutta divergenttiä evoluutiota on tapahtunut jälkikäteen eri suuntiin eri populaatioissa. Joskus värisynteesireitti voi häiriintyä monen lokuksen yhteisvaikutuksesta (Narbona ym. 2018). Tässä tapauksessa populaatiossa saattaa esiintyä toista värimuotoa erittäin harvoin, mutta populaatiota ei voida laskea väripolymorfiseksi johtuen siitä ettei värimuotoa esiinny joka sukupolvessa, tai se on hyvin harvinainen jolloin frekvenssi on alle 0,05 tai 0,01 (Hedrick 1983). Värimuotojen frekvenssit voivat vaihdella rajusti erilaisissa ympäristöissä. Kasvin valintapaineet voivat olla eri värisinä jopa täysin erilaiset, mikä voi johtaa hyvinkin erivärisiin populaatioihin (Narbona ym. 2018).

Tämän työn tarkoituksena on perehtyä kasvien värimuunteluun. Kerron aluksi kasvien pigmenteistä, sen jälkeen mutaatioista, jotka muokkaavat niitä ja lopuksi valinnasta, jota tapahtuu erivärisiä kasveja kohtaan. Itse olen ollut lapsesta asti kiinnostunut erilaisista kasveista ja havainnoin hyvin nuorena kasveilla erilaisia värimuotoja. Huomasin välillä punaisia ja valkoisia sinivuokkoja, punaisia lemmikkejä ja haljuja metsäkurjenpolvia. Tämä aihe on itselleni kiintoisin ja luulen, että tulen tulevaisuudessa saavuttamaan suuria askeleita tällä alalla.

2. Kukkien värin biokemiallista perustaa

2.1. Pigmentit

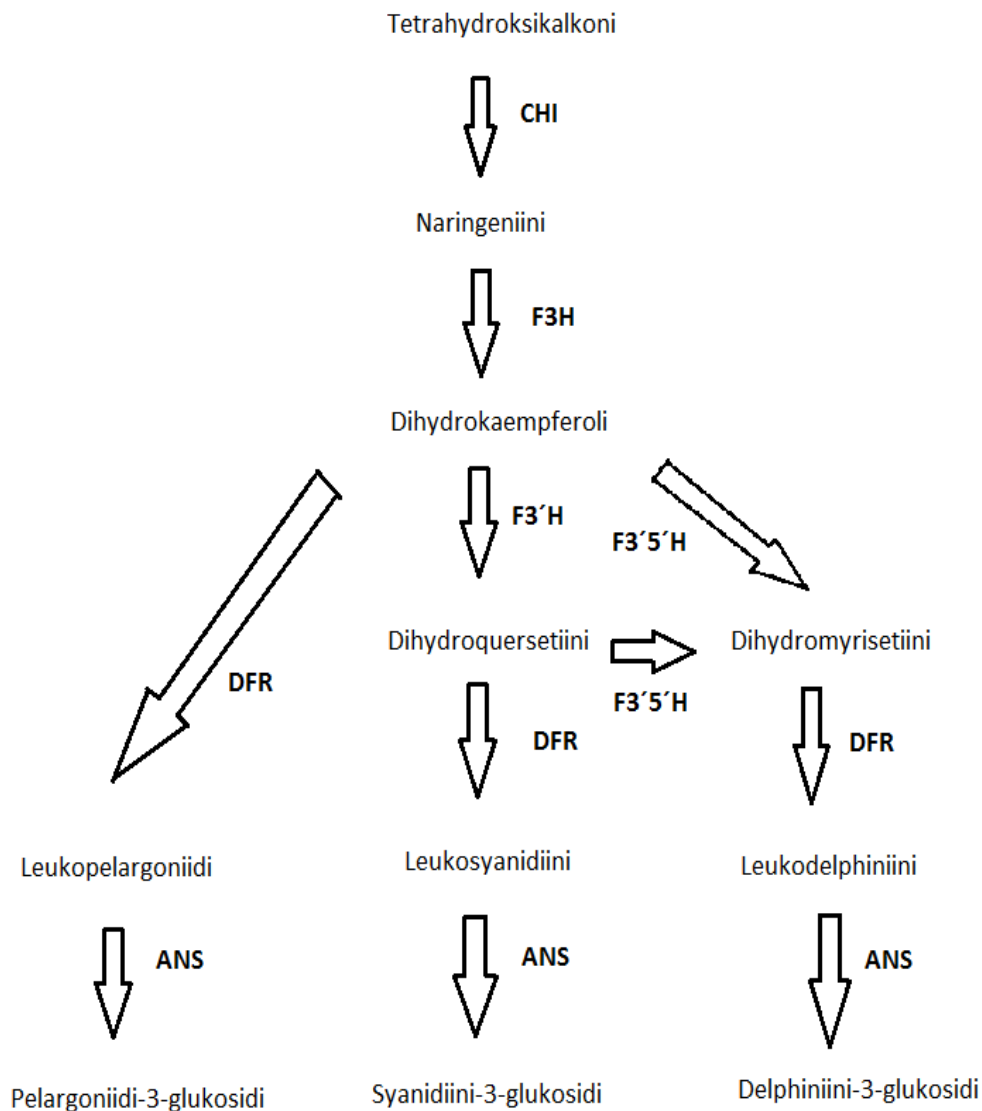
Pigmentit ovat kasvien väriaineita. Niillä on monia tarkoituksia. Ne toimivat kasvien elintoimintojen kannalta tärkeissä reaktioissa, suojelevat ympäristön stressiltä, sekä värjäävät kukkia houkuttaakseen pölyttäjiä (Narbona ym. 2018). Nämä seikat ovat olennaisessa osassa tässä tutkielmassa ja tulen käsittelemään niitä myöhemmin. Kasvipigmentit jaetaan antosyaaneihin, karotenoideihin ja beetalaineihin (Grotewold, 2006).

2.1.1. Antosyaanit

Antosyaanit ovat vesiliukoisia pigmenttejä, jotka ovat kukkien väriaineita (Ortiz-Barrientos ym. 2013). Auronit, kalkonit, flavonit ja flavonolit ovat antosyaanien esiasteita ja niiden väri vaihtelee kermanvalkoisesta keltaiseen. Antosyaanien värit vaihtelevat sinisestä punaiseen. Antosyaanien tuotannosta kasveilla vastaa antosyaanien biosynteesireitti (ABP). Biosynteesireittiin kuuluu paljon erivärisiä flavonoideja. (Holton ja Cornish 1995).

Antosyaanin biosynteesireitin esiasteita ovat malonyyli-CoA ja p-koumaroyyli-CoA. Kalkonisyntaasi tuottaa näistä yhdisteistä tetrahydroksykalkonia. Kalkoni-isomeraasi katalysoi tetrahydroksikalkonin värittömäksi naringeniiniksi. Naringeniini syntetisoidaan dihydrokaempferoliksi flavanoni 3-hydroksilaasin avulla. Dihydrokaempferolilla on tämän jälkeen kolme mahdollista biosynteesireittiä, jotka johtavat lopulta pelargoniidi-3-glukosidiin,

syaniidiini-3-glukosidiin tai delphiniini-3-glukosidiin (kuva 1). Nämä pigmentit ovat antosyaaneja (Holton ja Cornish 1995).



Kuva 1. Antosyaanien biosynteesireitti

Suuresti värimuuntelevalla petunialla (*Petunia x hybrida*) on löydetty kaksi kalkonisyntaasiin vaikuttavaa geeniä, *chsA* ja *chsJ*, jotka ilmenevät kukissa. Leijonankidalla (*Antirrhinum majus*) on ainoastaan yksi kalkonisyntaasiin vaikuttava geeni, mikä löytyy *nivea*-lokuksesta. Kalkoni on yleensä vain pikainen välituote kasvien solukoissa, joten se muutetaan nopeasti naringeniiniksi kalkoni-isomeraasilla. Joissain kasveissa, esimerkiksi kiinanasterissa (*Callistephus chinensis*), kalkoni-isomeraasi ei ole aktiivinen, joten kalkonia kertyy kukkiin värjäten ne keltaisiksi. Kalkoni voidaan muuttaa naringeniiniksi ilman kalkoni-isomeraasia,

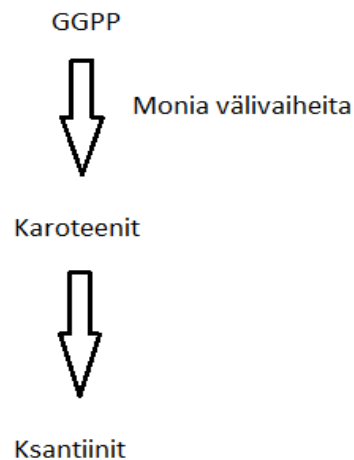
mutta katalysoiminen on huomattavasti hitaampaa. Petunialla on yksi kukassa ilmenevä kalkoni-isomeraasigeeni, *chiA*, jonka tietty mutaatio johtaa siitepölyn värin muuttumisen keltaisesta valkoiseksi. Petunialla ja leijonankidalla löytyy kummaltakin yksi geeni, joka tuottaa flavanoni 3-hydroksilaasia (Holton ja Cornish 1995).

Flavonoidi 3-hydroksilaasi tuottaa dihydrokaempferolista dihydroquersetiinia. Petunialla tavataan kaksi tätä entsyymiä tuottavaa geeniä *Ht1* ja *Ht2*. *Ht1* vaikuttaa kukkaperään ja teriöön ja *Ht2* vaikuttaa vain teriöön (Holton ym. 1995). Aitoelämänlangalla (*Ipomoea purpurea*) mutaatio F3'H tuottavassa geenissä aiheuttaa värimuuntelua pigmentin väritasolla (Zufall ja Rausher, 2003). Flavonoidi 3',5'-hydroksilaasi tuottaa sekä dihydrokaempferolista, että dihydroquertisiinista dihydromyrisetiiniä, mikä on delphiniinien esiaste. Petunialla löytyy kaksi lokusta *hfl* ja *Hf2*, jotka säätelevät entsyymin aktiivisuutta (Holton ja Cornish 1995).

Dihydroflavonoli 4-reduktaasi (DFR) on monitoiminen entsyymi, sillä se pystyy tuottamaan 3 erilaista leukoantosyanidia, leukopelargoniinia, leukosyanidiinia ja leukodelphiinia niiden esiasteista. Petunialla on yksi geeni, *dfrA*, jota ilmennetään kukissa. Se muuntaa dihydromyrisetiinin leucodelphiiniiniksi. Viimeisessä antosyaanien biosynteesireitin vaiheessa antosyanidisyntetaasi (ANS) muuttaa leukoantosyanidit antosyaaneiksi, joita ovat Pelargoniini-3-glukosididi, Syaniidi-3-glukosidi ja Delphiiniini-3-glukosidi. (Holton ja Cornish 1995).

2.1.2. Karotenoidit

Karotenoidit ovat kasveille elintärkeitä pigmenttejä, joita syntetisoidaan plastideissa. Ne suojaavat kasvia liialta valolta fotosynteesin aikana ja toimivat abskissihapon esiasteina. Kasveilla ja eläimillä on monia karotenoideja muokkaavia entsyymejä, joten ne ovat tärkeässä roolissa kummankin eliötyypin elinkierrossa. Karotenoidien väri vaihtelee normaalisti keltaisesta oranssiin (Grotewold 2006).



Kuva 2. Karotenoidien biosynteesi pelkistettynä.

Karotenoidien biosynteesireitti käsittää monia vaiheita. Alussa geranyylieranyylidifosfaatista muokataan monien välivaiheiden kautta lykopeenia, joka on väriltään punainen. Lykopenistä katalysoidaan erilaisia karoteeneja (kuva 2). Karoteenit ovat väriltään oransseja, ja niitä löytyy monista kukista, mutta myös kasvien muista osista ja esimerkiksi porkkanoista. Karoteeneja katalysoimalla saadaan ksantofyllejä, jotka ovat väriltään keltaisia (Grotewold 2006).

2.1.3. Beetalainit

Beetalainit ovat vesiliukoisia pigmenttejä, joita tuotetaan tyrosiinista. Dihydroksifenyylialaniinia pidetään kaikkien beetalainien esiasteina. Beetalainit voidaan jakaa beetasyaaneihin ja beetaksantiineihin. Beetasyaanien väri vaihtelee violetista punaiseen ja niitä löydetään muun muassa portulakoilta. Beetaksantiinien väri vaihtelee keltaisesta oranssiin. Beetalainit ovat harvinaisia kasveissa verrattuna antosyaaneihin ja karotenoideihin. Beetalainia ilmentävissä kasveissa ei tuoteta antosyaania ja sama toimii myös toisinpäin. Tämä saattaa johtua pigmenttien tehtävien ja värityksen päällekkäisyyksistä. Beetalainia tavataan myös useimmilla sienillä (Grotewold 2006).

2.1.4. Muut tekijät

Vaikka pigmenttien ilmentyminen vaikuttaa kukan väriin suuresti, on myös muita tekijöitä jotka säätelevät väritystä. Vakuolin sisäinen happamuus vaikuttaa antosyaanien värjäytymiseen. Petunian antosyaanipitoisia kukkia tutkiessa on huomattu, että nuori punainen kukka muuttuu vanhetessaan sinisemmäksi. Tämä johtuu vakuolin emäksisyyden noususta ajan myötä, joten sinisyys johtuu suuremmasta emäksisyydestä (Mol ym. 1998). Elämänlangalla puolestaan kukan kehitys tarvitsee emäksisyyden nostoa vakuoleissa, jolloin niiden kukat ovat valmiiksi sinisiä (Grotewold 2006).

Antosyaaneja sisältävien solujen muoto solukossa myös vaikuttaa ulospäin nähtävään väriin. Leijonankidalla terälehtien epidermaalisten antosyaania sisältävien solujen muoto on yleensä kartiomainen, jolloin ne absorboivat hyvin valoa. Niinkutsutuilla mixta-mutanteilla solujen muoto on litistyneempi, jolloin ne absorboivat vähemmän valoa ja näyttävät villityyppiä haaleammilta (Mol ym. 1998).

3. Väriin vaikuttavia geenejä ja niiden toimintaa

Värimuuntelevilla kasvilajeilla on monenlaista polymorfiaa. Yleisin polymorfian muoto saa alkunsa pigmentin biosynteesireitin häiriöllä, jolloin populaatiosta löytyy pigmentoituneita villityyppejä ja heterotsygootteja, sekä resessiivisen mutaatioalleelin ainoastaan omaavia valkoisia muotoja. Mutaatio voi myös tapahtua keskellä biosynteesireittiä, jolloin polymorfian kohteena saattaa olla pigmentoituneita, mutta erivärisiä muotoja. Joissain alleeleissa pigmentin pitoisuus saattaa periytyä myös yhteisvallitsevasti, jolloin homotsygootti dominantti muoto on tumma, heterotsygootti muoto on vaaleampi ja resessiivinen täysin valkoinen. Useat eri lokukset voivat toimia joissain lajeissa yhtäaikaisesti, jolloin värityypppejä on useampia. Suurin osa värimuuntelusta on antosyaaniin perustuvaa, vain pieni osa on karotenoidiperustaista. Välimeren rannikkoalueilla antosyaaniin perustuvaa muuntelua tavataan 88% kasveista ja kaikki muu perustuu karotenoideihin (Narbona ym. 2018).

3.1. Esimerkkejä antosyaanireitin geenien vaikutuksista

Puna-alvella (*Lysimachia arvensis*) tavataan kahteen eri antosyaanipigmenttiin perustuvaa polymorfiaa Välimeren alueella. Värityypejä ovat punainen ja sininen. Punainen värimuoto tuottaa vähän hydroksiloitua pelargoniinia, kun taas sininen tuottaa korkeasti hydroksiloitua delphiniinia (Ortiz ym. 2015).

Aitoelämänlangalla on monitahoista värimuuntelua Yhdysvaltain kaakkoisosissa. Kasvista löytyy neljä kukan väriin vaikuttavaa lokusta, jotka yhdessä saavat aikaan monenlaisia värimuunnoksia. Locus P määrää kukan värin, locus W määrää pigmentin jakautumisen kukassa, locus I määrää pigmentin konsentraation lokuksen W villityypissä ja locus M vaikuttaa siihen onko kukka pilkullinen vai ei (Ennos ja Clegg 1983).

Aitoelämänlangasta tavataan kahteen eri pigmenttiin perustuvaa muotoa. Pigmenteistä syanidiini värjää kukan violetiksi ja pelargoniini pinkiksi. Värin määräytyminen tapahtuu lokuksessa P. Villityypin kasvi (P/P) tuottaa biosynteesin mukaisesti syanidiiniä, joten niiden kukan väri on violetti. Heterotsygootista kasvista (P/p) löytyy vielä tarvittavat entsyymit, joten sen väri on myös violetti. Resessiivinen muoto (p/p) on puolestaan pinkki johtuen pigmentin katkenneesta biosynteesistä, joka viedään loppuun eri tavalla johtaen pelargoniinin tuottoon. Tämä locus on flavonoidi-3'-syntetaasi, joka normaalisti tuottaa kyseistä F3'H-entsyymiä. F3'H-entsyymi tarvitaan, jotta dihydrokaempferoli saadaan muutettua dihydroquersetiiniksi ja biosynteesireitin mukaan lopulta syanidiiniksi. Insertio tässä geenissä aiheuttaa toimimattomuuden. Dihydroflavonolireduktaasi muokkaa dihydrokaemperolista leukopelargoniinia, joka biosynteesin lopuksi muokataan pelargoniiniksi (Zufall ja Rausher 2003).

Pigmentin konsentraatioon vaikuttaa W-lokus. Antosyaanit syanidiini ja pelargoniini ovat tässä tapauksessa yhteisdominantteja muiden värittömien pigmenttien kanssa, joten genotyyppi vaikuttaa värin määräytymiseen asteittain. Villityyppi (W/W) on väriltään tumma, (W/w) on vaalea ja (w/w) on valkoinen, jossa on pigmentin väriin perustuvat vaaleat raidat (Fry ja Rausher, 1997). Villityypin (W/W) sisällä tapahtuu vielä muuntelua lokuksessa I. Locus I on dominantti mutanttialleelin suhteen, joten (W/W) voi jakautua voimakkaan tummaan värityyppiin (I/I) tai (I/i) tai hieman haaleampaan resessiiviseen tyyppiin (i/i). Laikkuja aiheuttava locus M on myös dominantti villityypin suhteen. Värivaihtoehtoja on monta ja ainakin 10 niistä on selvästi erottuvia (Ennos ja Clegg 1983).

Villityyppi on yleensä tummin muoto polymorfisissa kasveissa (Narbona ym. 2018). Aina näin ei kuitenkaan ole, sillä joillain kasveilla heterotsygoottinen muoto on kaikkein tummin. Tällaista periytyvyyttä on muunmuassa tutkittu puna-apinankukalla (*Mimulus lewisii*). Tällä kasvilla on inaktivoiva mutaatio flavonisynteesigeenissä (FNS). FNS tuottaa flavoneita, jotka ovat värittömiä yhdisteitä. Flavonit sitoutuvat substraatteihin, joita myös antosyaanin biosynteesiin tarvittavat entsyymit tuottavat. Jos flavoneita tuotetaan paljon, jää antosyaanin biosynteesientsyymit ilman substraatteja, eivätkä ne pysty jatkamaan antosyaanien tuottoon asti. Näin ollen kasvi jää haalean väriseksi. Flavoneja tarvitaan kuitenkin antosyaanien tasapainottamiseen, ja mikäli niitä ei tuoteta, antosyaani hajoaa. Puna-apinankukalla on kolme genotyyppiä FNS-geenin suhteen, villityypin FNS/FNS, FNS/fns sekä fns/fns. FNS/FNS tuottaa paljon flavoneita, jolloin antosyaanin tuotto jää pieneksi. Pigmenttien yhteisvaikutuksesta kukka on vaaleanpunainen. FNS/fns tuottaa puolikkaan määrän flavoneja edelliseen tyyppiin verrattuna, jolloin antosyaanin biosynteettiset entsyymit pystyvät suuremmassa määrin sitoutumaan substraatteihin. Kukassa on tällöin antosyaania paljon suurempia määriä ja kukan väri on tummempi pinkki. fns/fns ei tuota flavoneja yhtään, jolloin se tuottaa pelkkää antosyaania. Flavoneja ei ole kuitenkaan yhtään tasapainottamassa antosyaaneja, jolloin ne hajoavat täysin ja kukan väri on pelkästään valkoinen (LaFountain ym. 2017).

3.2. Esimerkkejä karotenoidireitin geenien vaikutuksista

Kasvin terälehdistä karotenoidien biosynteesiä aiheuttavia geenejä ei ole vielä tutkittu paljoa, joten niiden toiminta on suurimmalta osin hämärän peitossa. Puna-apinankukalla on kuitenkin tutkittu karotenoidien akkumulaatiota kukassa. Kukassa tuotetaan myös antosyaaneja, mutta lajin villityyppi tuottaa pölytysputken matkalle karotenoidista koostuvan keltaisen alueen. Mutaatio transkriptiofaktorissa R2R3-MYB aiheuttaa selvästi vähentynyttä karotenoidien tuotantoa kukassa.

En löytänyt muuta populaation sisäiseen värimuunteluun perustuvaa esimerkkiä, joten esittelen tässä kaalin (*Brassica oleracea*) eri populaatioihin perustuvien väriyyppeiden taustaa kukan värin tasolla. Kaalilla löytyy populaatioita, joissa kukan väri on joko valkoinen tai keltainen. Väriyksen saa aikaan yksi dominantti geeni nimeltään *cpc-1*. Tässä geenissä valkoinen väri on dominoiva, jolloin keltainen esiintyy ainoastaan resessiivisissä

populaatioissa. Han ym. (2015) käyttivät näitä eri värimuotoja risteytyksiin, joiden avulla pystyttiin todistamaan geenin toiminta. Vanhempina toimivat keltateriöinen naaraskasvi ja valkoteriöinen koiraskasvi. Näiden kasvien jälkeläiset olivat F1-polvessa kaikki valkoisia. F2-polven kasveista oli 3:1 valkoisia ja keltaisia. Tämän jälkeen tehtiin takaisinristeytykset kummallakin vanhempaislinjalla. Valkoisen linjan (homotsygootti) ja F1-linjan (heterotsygootti) risteytyksistä saatiin pelkästään valkokukallisia jälkeläisiä, kun taas keltaisen linjan ja F1-linjan risteytyksistä saatiin kumpaakin väriä lukusuhteessa 1:1. Näillä risteytyksillä pystyttiin todistamaan valkoisen alleelin dominanssi ja myös se, että mutaatio tapahtuu yhdessä lokuksessa. Keltainen väri on kuitenkin yleisempi kaalikasveilla, mikä saattaa johtua keltaisen värin paremmasta kelpoisuudesta ympäristöönsä.

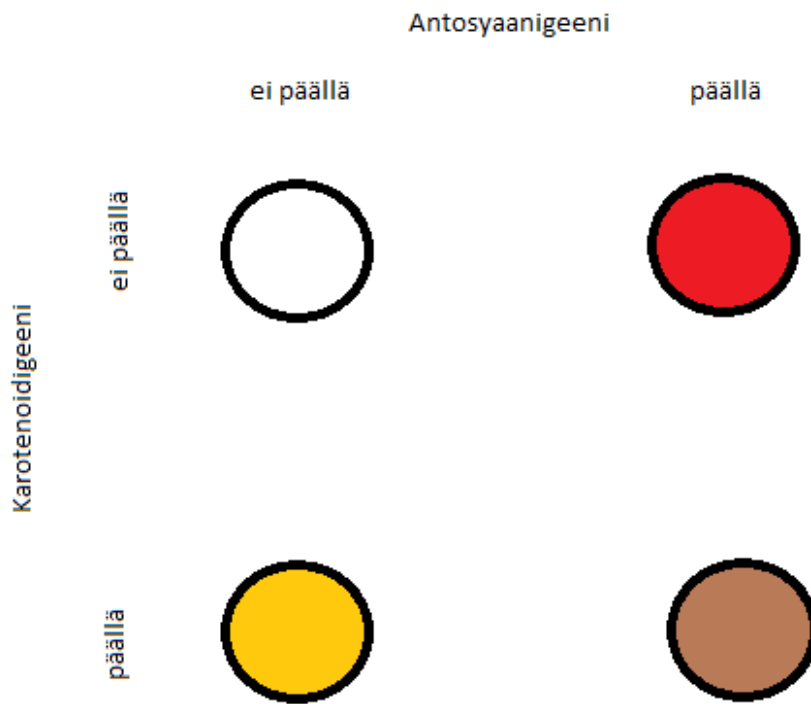
3.3. Esimerkkejä beetalainireitin geenien vaikutuksista

Caryophyllales-lahkoon kuuluvalla mökinihmekukalla (*Mirabilis jalapa*) kukan pigmentaatio perustuu beetalaineihin. Lajilta löytyy pigmentteinä sekä beetasyaaneja, että beetaksantiineja. Beetasyaani on värillisesti ja hieman toiminnallisesti antosyaanin fylogeneettinen vastike. Beetaksantiini taas muistuttaa väriltään huomattavasti karotenoidien spektriä, mutta ei jaa muuten samoja toimintoja. Beetalainien yhteinen konsentraatio on jokaisella värityypillä sama, joten lajin värimuuntelu perustuu beetasyaaniin ja beetaksantiiniin eri suuruuksiin. Ihmekukan värimuotoja ovat keltainen, pinkki, punainen ja magenta. Keltaisessa värimuodossa beetaksantiinien määrä on hyvin suuri verrattuna beetasyaaniin. Pinkissä ja magentassa muodossa beetasyaania ilmennetään huomattavasti enemmän kuin beetaksantiineja. Punaressa muodossa kummankin pigmentin ilmentäminen on hyvin tasaista (Berardi ym. 2013).

3.4. Geenien yhteisdominanssi

Eräillä polymorfisilla kasvilajeilla, retiisillä (*Raphanus sativus*) ja leijonankidoilla, kukan väriytykseen vaikuttavat samaan aikaan sekä karotenoidit, että antosyaanit. Näillä kasveilla löytyy yleisesti 4 eri värimuotoa, jotka ovat valkoinen, punainen, keltainen ja ruskea. Valkoinen värimuoto ei ilmennä mitään näistä pigmenteistä, keltainen ilmentää ainoastaan

karotenoideja, punainen ainoastaan antosyaaneja, sekä ruskea kumpiakin pigmenttejä samanaikaisesti (Irwin ym. 2003; Ellis ja Field, 2016, Kuva 3.).



Kuva 3. Mahdolliset eri värimuodot antosyaanin ja karotenoidin yhteisdominanssissa.

4. Valinnan vaikutus värimuotoihin

4.1. Bioottiset tekijät

Värimuotoihin vaikuttavaksi valintatekijöiksi voidaan laskea pölyttäjät ja kasvinsyöjät. Pölyttäjät valitsevat yleensä värityypeistä parhaimmat, jolloin pölytys on epätasaista. Kasvinsyöjät puolestaan laiduntaessaan valitsevat parhaiten itselleen sopivat yksilöt, ja jättävät epähoukuttelevimmat syömättä (Narbona ym. 2018).

4.1.1. Pölyttäjät

Pölyttäjät pitävät yllä monen kasvilajin värimuuntelua. Yleisiä pölyttäjiä ovat mm. kimalaiset, mehiläiset, perhoset ja jotkin linnut. Pölyttäjät voivat vieraila enemmän tietyissä värityyeissä kuin toisissa. Kimalaiselta puuttuu punaista väriä näkevä reseptori, joten sen on helpompi löytää muunvärisiä kasveja ja se tulee todennäköisesti vierailemaan niissä enemmän (Veiga ym. 2014). Pölyttäjät myös oppivat, jolloin ne muokkaavat käyttäytymistään hakien ravintoa siitä värityyeistä, josta löytyy paras pölytyspalkkio ja pölyttävät näitä lisää (Russel ym. 2016)

Positiivinen frekvenssivalinta on yleistä pölyttäjillä. Koska pölyttäjillä on suurempi mieltymys tiettyyn värityyppiin, ne vierailevat niissä enemmän kuin toisissa. Tämä värityyppi tulee laajasti ristipölytettyä ja se voi yleistyä. Positiivinen frekvenssivalinta voi johtaa populaation monomorfiaan ja sitä kautta lajiutumiseen (Narbona ym. 2018).

Monissa polymorfisissa populaatioissa suurin värityyppiryhmä on yleensä suosituin. Pölyttäjät pölyttävät enimmäkseen näitä kasveja ja jättävät harvinaiset värityytit pölyttämättä. Monet kasvit ovat kuitenkin kykeneviä itsepölytykseen, joten tietyn ajan kuluessa ne pölyttävät itsensä, ellei ulkopuolinen pölyttäjä pölytä niitä. Muuntelun kannalta itsesiitos on huono vaihtoehto, mutta näin jokin tietty värityyppi saattaa säilyä populaatiossa (Narbona ym. 2018).

Negatiivista frekvenssivalintaakin tapahtuu pölyttäjien toimesta. Tietty värityyppi yleistyy ajan kuluessa johtuen siitä, etteivät pölyttäjät löytäneet aikaisemmin vallalla olevasta värityyeistä tarpeeksi hyvää pölytyspalkkiota. Nykyisen värityypin yleistyessä pölyttäjät huomaavat, että tästäkään värityyeistä ei saa hyvää palkkiota ja siirtyvät takaisin aikaisemmin preferoituun värityyppiin paremman palkkion toivossa (Narbona ym. 2018). Tämän tyyppistä valintaa esiintyy seljakämmekällä (*Dactylorhiza sambucina*). Tämän kämmenkän polymorfia on kuitenkin tasaista. Gigord ym. (2001) tutkiessaan ranskalaista populaatiota huomasivat, että kasvin naaras- ja koirasosilla on suurempi lisääntymiskelpoisuus, mikäli ne edustavat harvinaisempaa muotoa. Kämmenkän kukat ovat vaikuttavia pölyttäjien mielestä, mutta palkinnon puutteessa ne alkavat hakea ravintoa toiselta värimuodolta. Pölyttäjät ovat tässä tapaksessa naiveja, eli ne ehtivät unohtaa aikaisemman värityypin palkkiottomuuden siirtyessään seuraavalle.

Kirkiruoholajilla (*Gymnadenia rhellicani*) on värimuunteleva populaatio Puflatschissa, pohjois-Italiassa. Kasvilla on kolme värityyppiä jotka ovat musta, punainen ja valkoinen. Näihin värityypeihin johtanut mutaatio on tapahtunut antosyanidiini-geenissä (ANS), ja se estää geenin toiminnan. Musta värityyppi on villityyppi, ja lajia tavataan yleisesti muualla monomorfisena sen suhteen. Mutaation omaavassa populaatiossa punainen värityyppi on heterotsygootti ja valkoinen värityyppi on homotsygootti mutaation suhteen. Mustaa esiintyy populaatiossa 62%, punaista 28% ja valkoista 10%. Pölyttäjät suosivat punaista värityyppiä ylitse muiden. Tästä johtuen lajilla tapahtuu pölytykseen perustuvaa ylidominanssia. Punaisen värityyppin ollessa näin alhainen voidaan päätellä populaation olevan suhteellisen nuori (Kellenberger ym. 2019).

Punakosmoskukalla (*Cosmos bipinnatus*) on kolme värityyppiä, jotka ovat violetti, pinkki ja valkoinen. Pölyttäjät suosivat kaikista eniten pinkkiä värityyppiä, joka on heterotsygootti. Malerban (2011) mukaan heterotsygootin suosimisella saadaan aikaan tasapainottavaa valintaa, joka auttaa pitämään polymorfian frekvenssit tasaisena.

Polymorfisilla kasveilla voi tapahtua ominaisuuden eriytymistä (engl. character displacement), mikä voi johtaa populaation monoformiaan. Tätä on havaittu ristikukkaisten heimoon kuuluvalla *Leavenworthia stylosa* Lounais-Yhdysvalloissa. Normaalisti tämän lajin populaatioissa tavataan karotenoidipitoista keltaista värimuotoa sekä pigmentitöntä valkoista muotoa yhdessä esiintyen. Alueilla, missä sisarlajia *Leavenworthia exicua* kasvaa, tavataan ainoastaan keltaista värimuotoa. *Leavenworthia exicua*n kukan väritys on valkoinen, joten kummallakin lajilla on yhteisillä esiintymisalueilla oma värinsä. Valkoisen kukan poisjääminen *Leavenworthia stylosa*-populaatioissa johtuu siitä, että pölyttäjät suosivat yleensä samanvärisiä kukkia. Valkoisia kukkia suosivat pölyttäjät pölyttäisivät *exicua*n, sekä *stylosa*n kukkia, mikäli ne esiintyisivät samalla alueella. Nämä lajit ovat sisarlajeja, joten ne pystyvät tuottamaan hybridejä keskenään. Hybridien tuottaminen ei hyödytä kumpaakaan lajia evolutiivisesti, sillä hybridit eivät pysty lisääntymään, ja niihin laitetut resurssit menisivät hukkaan (Norton ym. 2015).

Keltakatkerolta (*Gentiana lutea*) löytyy Espanjassa sekä keltaista, että oranssia värimuotoa. Värimuotojen vaihtelu perustuu karotenoidien biosynteesin, sekä varastointiin liittyviin mutaatioihin. Keltakatkeron värimuuntelua pitää yllä osittain pölyttäjät, sekä siemeniä syövät linnut. Pölyttäjät, pääosin kimalaiset, suosivat keltaista muotoa enemmän kuin oranssia johtuen mahdollisesti niiden puutteesta nähdä punaisia värejä. Siemensyöjät puolestaan

suosivat oranssia muotoa enemmän, jolloin keltaisen kelpoisuus kasvoi. Keltainen muoto vaikuttaa olevan ylivoimainen, ja sen fiksaation arvellaan mahdollisesti olevan vielä kesken (Veiga ym. 2015).

4.1.2. Puolustus

Kasvit voivat puolustautua herbivoreja vastaan pigmenteillä, muunmuassa antosyaaneilla. Monissa kasveissa on antosyaania valmiina solukoissa tämän kaltaisten tilanteiden varalta. Jos antosyaanien biosynteesireitissä on mutaatio, eikä kasvi pysty tuottamaan sitä, jää se vaille suojaa. Tässä työssä olen kertonut kukan värin polymorfiasta, mutta laajemmalla näkökulmalla tarkasteltuna se voidaan myös luokitella antosyaanin ilmentämis/repressoitipolymorfiaksi (Warren ja Mackenzie 2001). Kukka on kuitenkin vain yksi kasvin osa, jossa antosyaania tuotetaan. Tämän perusteella voidaan pohtia, että kukan väri vaikuttaa kasvin resistenssiin antosyaanipohjaisessa polymorfiassa. Valkokukkainen kasvi omaa huonomman puolustuskyvyn kuin tumma vastaava, joten sitä vastaan kohdistuu täten enemmän valintaa. Irwin ym. (2014) totesivat tutkimuksessaan, että kasvinsyöjät laiduntavat huomattavasti vähemmän antosyaaneja ilmentävillä värityypeillä.

Osa kasveista, joilla esiintyy populaation sisäistä värimuuntelua, ovat itsepolyyteisiä. Ristikukkaisella *Boechea strictalla* kasvinsyöjien aiheuttama paine säilyttää värimuuntelua. Tällä lajilla löytyy valkoista, violettiä ja laventelinväristä värityyppejä. Valkoisen värityypin frekvenssi on 80% ja violetin ja laventerinväristen määrät ovat huomattavasti vähäisempiä. Valkoinen värityyppi on alttiimpi laiduntamiselle kuin violetti muoto. Antosyaanien ja muiden biosynteesireitin esiasteiden konsentraatio on paljon suurempi violeteissä kasveissa kuin muunvärisissä, jolloin kasvinsyöjät kokevat ne vähemmän huokuttelevana kuin antosyaanittoman valkoisen muodon. Antosyaanin tuottaminen vaikuttaa myös moniin muihin tekijöihin, kuten kuivuudensietoon sekä ultraviolettisäteilyn sietokykyyn. Valkoinen muoto puolestaan pärjää paremmin kosteammassa ympäristössä. Violetilla ja laventelinvärisellä muodolla pitäisi olla enemmän kelpoisuuteen perustuvia etuuksia, johtuen antosyaanien ilmentämisestä. Valkoisella muodolla saattaa olla muihin värityyppeihin nähden jotakin muitakin etuuksia, joita ei vielä tunneta (Vaidya ym. 2017).

Mökinihmekukkalla on beetalainiin perustuvaa pigmentoitumista. Beetalainien suuren määrän solukoissa on huomattu vaikuttavan negatiivisesti kasvinsyötiin. Näitä pigmenttejä ei ole kuitenkaan tutkittu riittävästi, jotta beetalainin stressitilaa hoitava mekanismi voitaisiin todistaa (Berardi ym. 2013).

4.1.3. Itsesiitos

Polymorfisissa populaatioissa pölyttäjät suosivat yleensä tiettyä väriyyppiä ylitse muiden (Narbona ym. 2018). Monissa tapauksissa pölyttäjät suosivat pigmentoitunutta muotoa jonka seurauksena valkoinen muoto jätetään pölyttämättä. Aitoelämänlangalla tapahtuu tasapainottavaa valintaa lokuksen W suhteen. Mikäli valkoisten kukkien frekvenssi on lähellä muiden fenotyyppien frekvenssiä, pölyttäjät pölyttävät kaikkia tyyppisiä tasapuolisesti. Valkoisen muodon ollessa vähäisempi, pölyttäjät alkavat hylkiä tätä väriyyppiä. Aitoelämänlanka kykenee itsesiitokseen. Tietyn ajan kuluttua se pölyttää itsensä, jos pölyttäjät eivät ole kukassa vierailleet. Subramaniamin ja Rausherin (2000) tutkimuksessa todetaan, että valkoinen frekvenssi tasaantuu aina kohti kohti 0,4, mikäli lähtöfrekvenssit ovat erilaiset. Muillakin kasvilajeilla on todettu värittömän muodon hylkimistä ja mutaatio voi säilyä populaatiossa pitkään, jos kasvi pystyy pölyttämään aina itsensä (Narbona ym. 2018).

4.2. Abioottiset tekijät

Pigmenteilla on myös abioottiselta ympäristön stressitekijöiltä suojaavia elementtejä. Kun kasvi stressaantuu, alkaa se tuottamaan metabolian sivutuotteena suurina määrinä vapaita happiradikaaleja, joita ovat muun muassa superoksidi-, hydroksyyli- ja perhydroksyyli-ionit. Näitä syntyy normaalin aineenvaihdunnan aikana pienempiä määriä, jolloin ne saadaan helposti hajotettua. Suurimääräisenä happiradikaalit aiheuttavat tuhoa kasvin sisällä muuntaen solun kalvoja jäykemmiksi huonommin toimiviksi. Antosyaaneilla, ja muilla flavonoideilla, on kyky hajottaa näitä happiradikaaleja. Tästä johtuen antosyaania tuottavilla kasvigenotyypeilla on kyky tulla paremmin toimeen stressaavissa ympäristöissä. Stressaavia abioottisia tekijöitä ovat muun muassa UV-säteily, ääriämpötilat, kuivuus ja maan suolaisuus. Ultraviolettisäteilylle altistettu kasvi tuottaa yleensä enemmän antosyaaneja perustilaan verrattuna. Tämä on nähtävissä siinä, että altitudin kasvaessa kasvien

antosyaanipitoisuus nousee huomattavasti. UV-säteilyn määrä nousee altitudin kasvaessa, koska ohuempi ilmakehä suodattaa sitä vähemmän. Kasvien silmuissa epidermaaliset kerrokset eivät ole vielä keväällä hyvin kehittyneet, joten niissä on huomattavasti antosyaaneja (Vicente ja Boscaiu 2018).

Puna-alvella on nähtävissä, että abioottiset tekijät vaikuttavat värimuuntelun säilymiseen. Tällä kasvilla on Välimeren alueella kaksi eri värimuotoa, punainen ja sininen, jotka esiteltiin aiemmin. Puna-alpea pölyttävät mehiläiset suosivat sinistä värimuotoa punaista enemmän. Mikäli kasvin valinta tapahtuisi vain pölyttäjien kautta, nousisivat sinisen väriyypin frekvenssit lopulta niin paljon, että punainen väriyyppe katoaisi. Väriyypin säilymisen ajatellaan johtuvan Välimeren erilaisista ympäristöistä, joissa kosteus vaihtelee huomattavasti. Sininen väriyyppe sietää paremmin kuivuutta kuin punainen ja kuivissa ympäristöissä sen frekvenssi on suurempi. Kosteissa ympäristöissä punaisen muodon esiintyminen on puolestaan suurempaa. Moninainen ympäristö saattaa tässä tapauksessa pitää muuntelua yllä (Ortiz ym. 2015).

Aavikolla elävällä virvakukkalajilla (*Linanthus parryae*) on sadekausiin sidonnaista värimuuntelua. Polymorfian ajateltiin aiemmin johtuvan ainoastaan geneettisestä ajautumisesta (Wright, 1943). Populaatiot olivat polymorfisia, eikä mitään valintatekijää osattu nimetä. Myöhemmin huomattiin, että ympäristön kosteus vaikuttaa polymorfian ylläpitämiseen (Schemke ja Bierzychudek 2001). Kuivina vuosina kasvi tuottaa enemmän valkokukkaisia väriyyppejä, jolloin niiden määrä populaatiossa kasvaa. Kosteampina kausina sinisen tuotto on suurempaa, jolloin niiden frekvenssi kasvaa suhteessa valkoisiin. Tätä ei voida kuitenkaan pitää ainoana värimuuntelua selittävänä tekijänä (Schemke ja Bierzychudek 2007). Valkoisella väriyypillä siementen tuotanto on suurempaa, joten sillä on kelpoisuusetu. Populaatiot, jotka tällä virvakukkalajilla eivät ole polymorfisia kukan värin suhteen, ovat kukkien väriltään valkoisia.

5. Geneettisen ajautumisen vaikutus värimuotoihin

Joissakin polymorfiatapauksissa värifrekvenssien muutos saattaa johtua geneettisestä ajautumisesta (Rauscher, 2008). Geneettinen ajautuminen tarkoittaa frekvenssien vaihtumista satunnaisesti, eikä se ota mitään ulkopuolisia muuttujia mm. pölyttäjiä huomioon.

Vaaleakurjenmiekalla (*Iris lutescens*) esiintyy värimuuntelua, jonka ajatellaan johtuvan geneettisestä ajautumisesta. Tällä kasvilla polymorfiset populaatiot sijaitsevat Välimeren pohjoisrannikolla Espanjassa ja Ranskassa. Vaaleakurjenmiekalla värimuuntelu perustuu antosyaanin ilmentämiseen. Villityyppi on väriltään violetti, ja mutaatio on puolestaan keltainen. Karotenoidipigmentti löytyy kummaltakin taustavärinä, mutta violetilla värityypillä antosyaani vahvempana pigmenttinä peittää sen. Värityyppien kelpoisuuksissa ei ole mitään eroja toisiinsa nähden. Kummallakin värityypillä kukan tuoksu on samanlainen ja lisääntymiseen liittyvää siitepölyä ja siemenaiheita tuotetaan yhtä paljon. Kumpaakin värityyppiä pölyttävät mehiläiset, eikä niillä ole todettu olevan värityypin suhteen minkäänlaisia mieltymyksiä (Wang ym. 2016).

Espanjan populaatiot olivat pääosin monomorfisia violetin värityypin suhteen. Geenivirta oli niissä vähäistä populaatioiden välillä, jolloin geneettinen ajautuminen on voinut johtaa monomorfiaan. Ranskalaisissa populaatioissa värimuuntelua löytyi ja geenivirta populaatioiden välillä oli suurempaa. Suuri geenivirta edesauttaa polymorfiaa, kun taas geneettinen ajautuminen on johtanut vain yhden värin esiintymiseen Espanjan populaatioissa. Tutkimustulos tukee sitä, että neutraalit mekanismit toimivat värimuuntelun taustalla tässä tapauksessa. Valinnan mahdollisuutta sekä suuruutta ei tule kuitenkaan sulkea pois (Wang ym. 2016).

6. Yhteenveto ja tulevaisuuden pohdinta

Tässä tutkielmassa olen käsitellyt kukan väriin vaikuttavia tekijöitä, sekä värimuunteluun liittyvää genetiikkaa. Kävin myös läpi mahdollisia valinnan muotoja, jotka vaikuttavat kasvin värimuunteluun. Työn tehneenä voin kertoa, että aihe on ollut mielenkiintoinen ja haluaisin jatkaa sen parissa tulevaisuudessa. Ilmastonmuutoksen myötä eliökunta tulee kokemaan

erilaisia vaikeuksia, ja on kiinnostavaa nähdä mitä tulee tapahtumaan värimuunteleville kasveille. Pölyttäjien määrä tulee todennäköisesti laskemaan tulevaisuudessa, jolloin kaikille kasveille ei riitä pölyttäjiä. Kasvit voivat joutua tulevaisuudessa turvautumaan itsesiitoksen, mikä saattaa värimuuntelevilla kasveilla muokata värimuotojen yleisyyksiä. Joillakin polymorfisilla kasveilla on eri värityypeille erilaiset pölyttäjät ja jos tiettyä värityyppiä pölyttävä laji kuolee sukupuuttoon, tulee värityyppi todennäköisesti harvinaistumaan tai häviämään. Ajan myötä myös abioottiset tekijät tulevat muuttumaan rajusti. Erilaisia ympäristöoloja paremmin kestävä värityyppi saattaa säilyä toisen kustannuksella ja kasvilaji muuttuu monomorfiseksi. Tämä on pelkkää pohdintaa omalta osaltani ja tulevaisuus näyttää lopulta mikä käy toteen.

7. Kirjallisuusluettelo

- Berardi A.E., Frey F.M., Denton E.M., Wells J.H. (2013) Betalain color morphs exhibit differential growth, defensive ability, and pollen tube growth rates in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 174(9), 1229-1238.
- Ellis T.J., Field D.L. (2016) Repeated gains in yellow and anthocyanin pigmentation in flower colour transitions in the Antirrhineae. *Annals of Botany*, 117(7), 1133-1140.
- Ennos R.A., Clegg M.T. (1983) Flower color variation in the morning glory, *Ipomoea purpurea*, *The Journal of Heredity*, 74(4), 247-250.
- Fry J.D., Rausher M.D. (1997) SELECTION ON A FLORAL COLOR POLYMORPHISM IN THE TALL MORNING GLORY (*IPOMOEA PURPUREA*): TRANSMISSION SUCCESS OF THE ALLELES THROUGH POLLEN. *Evolution*, 51(1), 66-78.
- Gigord L.D., Macnair M.R., Smithson A. (2001) Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soo. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 98(11), 6253-6255.
- Grotewold E. (2006) The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 761-780.
- Hedrick P.W. (1983) *Genetics of populations*. s.576, Jones and Barlett publishers, inc, Boston
- Holton T.A. & Cornish E.C. (1995) Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 1071-1083.
- Irwin R.E., Strauss S.Y., Storz S., Emerson A., Guibert G. (2003) The role of herbivores in the maintenance of a flower color polymorphism in wild radish. *Ecology*, 84(7), 1733-1743.
- Kellenberger R.T., Byers K.J.R.P., De Brito Francisco R.M., Staedler Y.M., LaFountain A.M., Schönenberger J., Schiestl F.P., Schluter P.M. (2019) Emergence of a floral colour polymorphism by pollinator-mediated overdominance. *Nature Communications*, 10(1), 63.

- LaFountain A.M., Chen W., Sun W., Chen S., Frank H.A., Ding B., Yuan Y. (2017) Molecular basis of overdominance at a flower color locus. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(12), 3947-3954.
- Narbona E., Wang H., Ortiz P.L., Arista M., Imbert E. (2018) Flower colour polymorphism in the Mediterranean Basin: occurrence, maintenance and implications for speciation. *Plant biology*, 20, 8-20.
- Norton N.A., Fernando M.T.R., Herlihy C.R., Busch J.W. (2015) Reproductive character displacement shapes a spatially structured petal polymorphism in *Leavenworthia stylosa*. *Evolution*, 69(5), 1191-1207.
- Ortiz P.L., Berjano R., Talavera M., Rodriguez-Zayas L., Arista M. (2015) Flower color polymorphism in *Lysimachia arvensis*: How is the red morph maintained in Mediterranean environments? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 17(2), 142-150.
- Rausher M.D. (2008) Evolutionary transitions in floral color. *International Journal of Plant Sciences*, 169(1), 7-21.
- Schemske D.W., Bierzychudek P. (2001) Evolution of flower color in the desert annual *Linanthus parryae*: Wright revisited. *Evolution*, 55(7), 1269-1282.
- Subramaniam B., Rausher M.D. (2000) Balancing selection on floral polymorphism. *Evolution*, 54(2), 691-695.
- Vaidya P., McDurmon A., Mattoon E., Keefe M., Carley L., Lee C., Bingham R., Anderson J.T., Ecological causes and consequences of flower color polymorphism in a self-pollinating plant (*Boechera stricta*). *New Phytologist*, 218(1), 380-392.
- Veiga T., Guitian J., Guitian P., Guitian J., Sobral M. (2015) Are pollinators and seed predators selective agents on flower color in *Gentiana lutea*? *Evolutionary Ecology*, 29(3), 451-464.
- Vicente O. & Boscaiu M. (2018) Flavonoids: Antioxidant Compounds for Plant Defence... and for a Healthy Human Diet. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 14-21.

- Wang H., Talavera M., Min Y., Flaven E., Imbert E. (2016) Neutral processes contribute to patterns of spatial variation for flower colour in the Mediterranean *Iris lutescens* (Iridaceae). *Annal of Botany*, 117(6), 995-1007.
- Zufall R.A., Rausher M.D. (2003) The Genetic Basis of a Flower Color Polymorphism in the Common Morning Glory (*Ipomoea purpurea*), *Journal of Heredity*, 94(6), 442-448.
- Warren J., Mackenzie S. (2001) Why are all colour combinations not equally represented as flower-colour polymorphisms? *New Phytologist*, 151(1), 23-241.
- Wright S. (1943) An analysis of local variability of flower color in *Linanthus parryae*. *Genetics*. 28, 139-156.